

石川県育成フリージア新品種「エアリーフローラ」における アブラムシによるウイルス伝搬

松田 絵里子・小牧 正子・吉田 佳代・植松 繁*・
上垣 陽平**・村濱 稔***

Eriko MATSUDA, Masako KOMAKI, Kayo YOSHIDA, Shigeru UEMATSU*, Yohei Uwagaki**
and Minoru MURAHAMA***:

Possibility of virus transmission through aphids on 'Airy-Flora', a new series of Freesia cultivars in Ishikawa Prefecture.

石川県育成新品種のフリージアにおいて、花卉にモザイク症状を生じさせている2つの原因ウイルス、フリージアモザイクウイルス (FreMV) およびインゲンマメ黄斑モザイクウイルス (BYMV) の圃場における感染経路を明らかにするため、アブラムシの発生活長調査とフリージアからフリージアへのアブラムシ伝搬試験を実施した。フリージア圃場のアブラムシ発生活長調査では、有翅アブラムシ類は2月下旬から3月下旬に初観測されたのち、4月から6月上旬にかけて徐々に増加した。そして、フリージア株とそれを吸汁するアブラムシの両者から、FreMVとBYMVが共に検出される事例も見られた。一方、FreMVとBYMVのアブラムシ伝搬実験では、BYMVは接種1ヶ月後に検出されたが、FreMVは接種4ヶ月後においても検出されなかった。以上から、圃場においてアブラムシが増加する4月から6月頃にBYMVの感染が繰り返されると考えられるが、FreMVの伝染環は確認できなかった。

Key words: フリージアモザイクウイルス, インゲンマメ黄斑モザイクウイルス, アブラムシ, 発生活長, 伝染環, *Freesia mosaic virus*, *Bean yellow mosaic virus*, aphid, population change, infection cycle

緒言

フリージアは、茨城県や東京都を中心に栽培されており、生産規模は小さいが市場には欠かせない花きの一つである。石川県は、農閑期である冬から春に、葉ボタンやフリージア等の花き栽培を県内農家に推奨している⁶⁾。特に、フリージアを県産ブランドの主力品目の一つとするため、これまでに新品種10種類 (石川f1号~f10号, シリーズ名「エアリーフローラ」) を育成し、現在も継続して品種開発を進めている^{7,8)}。

ところが、「エアリーフローラ」の一部の品種にウイルス病が発生しており、花卉が色むらに見えるモザイク

症状が、商品価値を損なわせている。

国内で発生するフリージアの病原ウイルスは、インゲンマメ黄斑モザイクウイルス (BYMV)、キュウリモザイクウイルス (CMV)、フリージアモザイクウイルス (FreMV)、フリージアスネークウイルス (FreSV) およびフリージア条斑ウイルス (FSV) の発生が報告されており^{10,12)}、「エアリーフローラ」ではFreMVとBYMVの2種類のウイルスがRT-PCR法により検出されている⁹⁾。この2種類のウイルスはともにPotyvirus属であり、アブラムシにより非永続的に伝搬されると考えられるが、FreMVについては、具体的な伝搬経路が明らかとなっておらず、戻し接種実験もこれまでに成功していない³⁾。

石川県農林総合研究センター農業試験場 Ishikawa Agriculture and Forestry Research Center Agricultural Experiment Station, Saida bo 295-1, Kanazawa, Ishikawa 920-3198

*現在: 石川県南加賀農林総合事務所 Present Address: Minami-kaga General Agriculture and Forestry Office, Sono ha 108-1, Komatsu, Ishikawa 923-0801

**現在: 公益財団法人 いしかわ農業総合支援機構 Present Address: Ishikawa New Agriculture Total Support Organization, Kuratsuki 2-20, Kanazawa, Ishikawa 920-8203

***現在: 石川県農林水産部生産流通課 Present Address: Division of Production and Distribution, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Ishikawa Prefecture, Kuratsuki 1-1, Kanazawa, Ishikawa 920-8580

そこで我々は、圃場におけるFreMVとBYMVの主な伝搬経路がアブラムシ伝搬であることを確認し今後の防除法の検討に資するために、アブラムシの発消長とそのウイルス保毒実態調査および、FreMVとBYMVのアブラムシ伝搬試験を実施した。

材料および方法

1. アブラムシ発消長調査

調査は、石川県農林総合研究センター農業試験場内の、フリージア原種球を生産する無加温のビニールハウスで行った。2015年は4棟で、2016年と2017年は、2015年とは異なる別の6棟で実施した。期間は2015年3月31日～5月29日、2016年2月26日～5月31日、2017年2月26日～6月9日に行った。調査終了日はそれぞれのハウスで異なり、フリージア球茎の掘り上げが終了する時点までとした。アブラムシの捕獲には、10.0cm×12.5cmの黄色粘着板トラップBug-Scan Yellow (Biobest) を使用し、ハウス内の対角線上に等間隔に3カ所、地際から約20cmの高さに設置した。トラップは5日毎に交換し、捕獲されたアブラムシ類の有翅虫数を調査した。なお、2017年の調査期間中、3月中旬と4月中旬に燻煙剤防除（アセタミプリド）を実施した。

2. RT-PCRによるウイルスの検出

2016年5月に上述のフリージアハウス内にて、アブラムシのウイルス獲得とフリージアのウイルス感染をRT-PCRにより調査した（第1表）。フリージアの葉とその葉に寄生していたアブラムシを一組としてサンプリングした。アブラムシと葉は、ただちにそれぞれをRNA抽出バッファーに浸漬し、急速に-80℃で凍結した。ただし、アブラムシは複数個体（2～30匹）をまとめて1試料とした。その後、アブラムシおよび葉約50mgから、それぞれRNAを抽出した。RNA抽出にはRNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を使用した。検出対象ウイルスは、FreMVとBYMVとした。FreMVプライマーは、GenBankに登録されているゲノム配列（FreMV：FM206346, GU214748, AM748701の外被タンパク質遺伝子の保存性の高い領域内で設計した（FreMV検出プライマー：iFreMV-F TGAGCGA AGGCGAAAAGCAAG/iFreMV-R CTTTCATCTGC ATGTGCGCTTCTC）。また、BYMV検出用プライマーはBYMV-CP54/BYMV-CP32¹³⁾を用いた。RT-PCRは、

PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver.2 (TaKaRa) を使用し、キットの説明書に従って実施した。反応は、50℃30分、94℃5分の後、94℃30秒・55℃30秒・72℃1分を40サイクル行った。PCR終了後、2%アガロースゲル電気泳動で増幅産物の有無を確認した。

3. アブラムシ伝搬試験

接種用のアブラムシは、フリージアハウス内にて捕獲し、累代飼育したモモアカアブラムシ（無翅虫）を使用した。ウイルス保毒フリージア株（以下、病原株）は、FreMVとBYMVに複合感染している市販品種‘ブルーレディ’およびFreMVに単独感染している‘石川f6号’を1株ずつ用いた。接種用の健全フリージア株は、品種‘モセラ’および‘石川f6号’の茎頂培養ウイルスフリー株を用いた。接種方法は標準的な実験手順¹⁾に準じた。まず、1～2時間絶食させたアブラムシを病原株の葉上に移し、30～60秒間吸汁させた。次に、ウイルスフリー株1株当たり4～6頭のアブラムシを葉上に移し30分間接種吸汁させた。接種後、アセタミプリド2000倍液を散布してアブラムシを殺処分した後、接種株を人工気象室に移して栽培管理した。接種後から1ヶ月毎に新規展開葉を4回サンプリングし、RT-PCRでウイルスの有無を調査した。

結果および考察

ビニールハウス内のアブラムシの初観測は2月下旬から3月下旬で、3月中は1トラップ当たり1頭前後で推移した（第1図）。4月以降は、増加幅に年次変動があるものの、調査終了時までおおむね増加傾向であった。2017年の調査のみ、試験期間中にビニールハウス内のアブラムシ防除を実施したが、これによりハウス内へのアブラムシの定着を減少させ、個体数の増加を抑制したと考えられた。

設計したFreMVプライマーを用いてRT-PCRを行うと、FreMVに感染したフリージアの葉から652bpのDNA断片が検出された（第2図）。増幅断片は塩基配列解析から、目的とするFreMVの外被タンパク質領域であることが確認された。

このFreMVプライマーと吉秋ら（2008）のBYMV検出用プライマーを用い、フリージアハウス内におけるアブラムシのウイルス保毒実態調査を実施した（第1表）。その結果、FreMVは9株上のアブラムシと6株の葉で

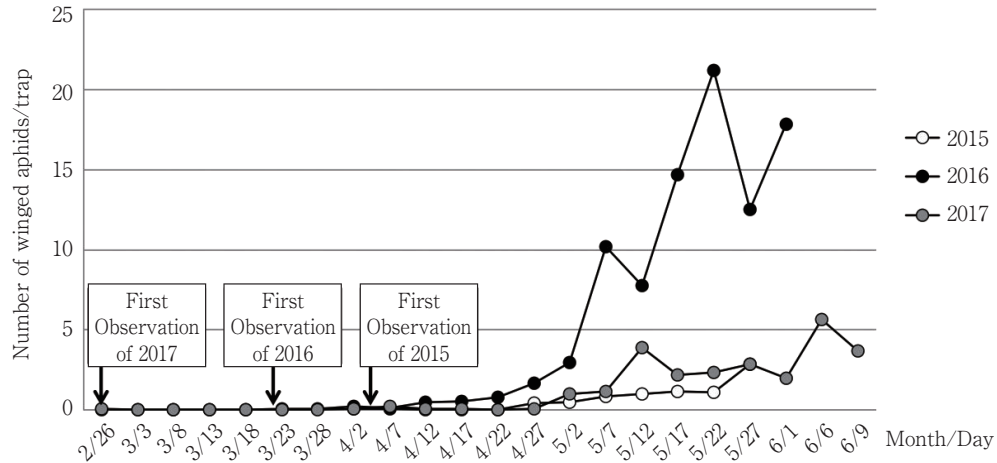


Fig. 1. Changes in population size of winged aphids in a freesia greenhouse.

Each data point shows average number of aphids per trap. In 2017, aphids were controlled twice (mid March and April).

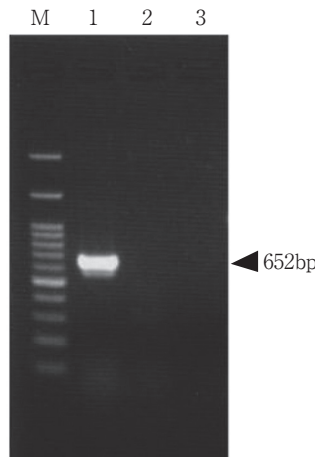


Fig. 2. Detection of FreMV by RT-PCR.

Predicted DNA product was 652bp.
 M: 100-bp DNA ladder, 1: FreMV-infected leaf,
 2: healthy freesia, 3: no DNA sample (water).

検出され、BYMVは13株上のアブラムシと10株の葉で検出された。ただし、アブラムシと葉のサンプルで同一のウイルスが検出された組み合わせは、22組中9組であった。

アブラムシ伝搬試験では(第2表)、『ブルーレディ』のFreMVとBYMVの重複感染株を接種源とした場合、2株(No.4, No.5)の花弁に強いモザイク症状、1株(No.3)の花弁に軽いモザイク症状が観察された。一方、『石川f6号』のFreMV単独感染株を接種源とした場合、花弁にモザイク症状は認められなかった。RT-PCRの結果、2株(No.4, No.5)についてはBYMVが検出

Table 1. Detection of FreMV and BYMV in freesia leaf and aphids feeding (infesting) on leaf by RT-PCR^{a)}

Sample no. ^{b)}	RNA from:				*
	Aphids		Freesia leaf		
	FreMV	BYMV	FreMV	BYMV	
1	-	+	-	+	*
2	+	+	-	-	
3	-	+	-	+	*
4	-	+	-	+	*
5	-	+	-	-	
6	-	+	-	+	*
7	+	+	-	+	*
8	+	+	-	-	
9	-	-	-	+	
10	+	+	-	-	
11	-	-	-	-	
12	-	-	-	-	
13	+	+	-	-	
14	-	-	-	-	
15	+	+	+	+	*
16	-	+	-	+	*
17	-	+	+	-	
18	-	-	+	-	
19	+	-	+	-	*
20	+	-	+	+	*
21	-	-	+	+	
22	+	-	-	-	

a) +: positive, -: negative, *: Viral species detected from leaf and aphids samples were identical to each other.

b) Freesia leaf fed on by aphids and corresponding aphids were collected as samples for RT-PCR. RNA was extracted separately from leaf and aphids samples.

Table 2. Virus transmission test through aphid

Source plant Inoculation plants (cultivar)	cv. 'Blue Lady' infected by FreMV and BYMV								cv. 'Ishikawa f 6' infected by FreMV								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
	Mosera				Ishikawa f 6				Mosera				Ishikawa f 6				
Infecting virus ^{a)}	FreMV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BYMV	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Floral symptoms ^{a)}		-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a) The + sign indicates virus detection positive or symptoms observed, while the - sign indicates virus detection negative or symptoms were not observed.

されたが³, FreMVは検出されなかった。一方, 株No.3からは, いずれのウイルスも検出されなかった。調査した全てのサンプルは, サンプリング時期によって検出, 非検出が変動することはなかった。

石川県では一般的に無加温ハウスでフリージア栽培が行われており, 9月から10月に球茎を定植すると3月中旬から4月中旬にかけて開花する。原種球等の生産では, 球茎を大きく肥大させるため, 開花終了後5月から6月頃まで栽培を継続する必要がある。今回の調査から, アブラムシのフリージアハウス内での初発生は, 2月下旬から3月下旬頃と考えられた。その後4月上旬ごろから徐々に個体数は増加し, 球茎を採取する5月から6月には頭数はピークに達した。アブラムシ伝染性ウイルスはこの時期に感染し, 球茎を通じて次年度に垂直伝染すると考えられた。

フリージアハウス内ではアブラムシが確認されることがほとんどなかったため, アブラムシ防除は随時防除とされていた。本研究で, アブラムシの発生実態が明らかになったので, アブラムシが活動を開始する2月ごろから球茎採取が終わる6月まで定期的なアブラムシ防除を行うことが, ウイルス感染と拡大を防ぐために必要と考えられた。富山県のチューリップ栽培においては, 5月上旬から下旬にかけてアブラムシ飛来数が顕著に増加し, チューリップモザイクウイルス (TulMV) の感染時期もこの時期とおおむね一致することが報告されている⁴⁾。富山県は隣県であることから, 石川県におけるアブラムシ有翅虫の発生消長もほぼ同様の推移であると考えられる。また, 富山県のチューリップ栽培現場では, ウイルス伝搬抑制効果の高い即効性殺虫剤を4月中下旬から定期的に散布するよう指導されている。即効性殺虫剤はアブラムシに十分な吸汁時間を与えない効果があると考えられ, フリージア栽培現場においても適期に散布することで感染株の抑制が期待できる。

フリージアに寄生していたアブラムシとその寄生葉の

ウイルスを調査した結果, 両者から同一のウイルスが検出された。このことから, フリージア栽培圃場において, FreMVとBYMVはアブラムシで伝搬されている可能性があると考えられた。

伝染源にFreMVとBYMVの重複感染株を用いた接種実験では, 8株に接種し2株の発病株が得られた。この2株はいずれも花卉に激しいモザイク症状が現れ, BYMVのみ検出された。接種株No.3では花卉に弱いモザイク症状が認められたが, FreMVやBYMVは検出されず, 生理的な条件でも起こりうるものと考えられた。また, FreMV単独感染株を接種源とした場合でも, 接種株のFreMV感染は確認されなかった。圃場においてアブラムシのFreMV獲得は確認されたことから, 実験系におけるアブラムシ接種条件が適切でなかったことも一因と考えられる。他方, 同一条件でBYMVの接種は成功していることから, フリージアにおいてFreMVはBYMVに比べて増殖速度が劣るとも考えられる。本実験では接種4ヶ月後まで感染の有無を調査したが, 栄養繁殖植物のウイルス病では接種当代で病徴発現せず, 次世代あるいは次作期で初めて感染が確認されることがある^{2,5,11)}。本実験では4ヶ月以降や次世代での感染発病を確認していないことから, 接種後の観察期間を再検討する必要があると考えられた。

以上の結果から, フリージア圃場において, アブラムシは4月上旬から徐々に飛来数が増え, 採花後から球茎掘り上げまでの栽培期間にBYMVは感染拡大すると考えられた。FreMVについては, BYMVと同じPotyvirus属であることから, BYMVと同様の伝染環であると推定されるが, 本研究では確認できなかった。今後, FreMVのアブラムシ接種条件を再検討するとともに, 種子伝染や接触伝染の可能性についても検討したい。

謝 辞

本研究を進めるにあたり貴重なご意見、ご指導をいただいた石川県立大学 森正之准教授、金沢大学 小藤累美子助教および西山智明助教、石川県農林総合研究センター 八尾充陸主任研究員に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 鍵和田聡・西尾 健 (2016) 第Ⅱ編 植物医科学実験の実際. 植物医科学実験マニュアル (堀江博道・橋本光司・西尾 健編), 453, 大誠社, 東京.
- 2) 前田孚憲・井上成信・光畑興二 (1984) ユリから分離されたチューリップモザイクウイルスの1系統. 農学研究60: 135~146.
- 3) 前野絵里子・水田里穂・諸橋一樹・川合 昭・長尾郁弥・延原 愛・遠藤三千雄・竹内 純・建本聡・堀江博道・西尾 健 (2014) 日本産フリージアに発生する条斑壊疽症状について - 病原ウイルスの探索 -. 関東病虫研報61: 122~126.
- 4) 桃井千巳・森脇丈治・守川俊幸 (2014) チューリップモザイクウイルス, チューリップXウイルスの多発要因と防除対策. 植物防疫68: 677~682.
- 5) 守川俊幸・多賀由美子・森井 環・夏秋知英 (2005) チューリップ条斑ウイルスの *Olpidium brassicae* sensu lato による伝搬と品種間の伝染源ポテンシャル差異. 北陸病虫研報54: 78
- 6) 村濱 稔 (2012) 切り花ハボタンの生産技術の開発とフリージア新品種の育成. 新たなトレンドの開拓と高品質化による花き生産の振興. 平成24年度 花き研究所シンポジウム: 36~41.
- 7) 村濱 稔 (2016) フリージアの品種育成. 最新農業技術花卉8: 172~176.
- 8) 村濱 稔・平野春菜・井須博史・松田絵里子 (2017) フリージア「石川f2号」~「石川f7号」の育成. 園学研 (Hort. Res. (Japan)) (別) 2: 272.
- 9) 中道晶子・松田絵里子・上垣陽平・小牧正子 (2016) エアリーフローラへの感染ウイルスの検出. 石川県農林水産研究成果集報18: 21.
- 10) 西村十郎 (1998) 日本植物病害大辞典 (岸 國平編), 545, 全国農村教育協会, 東京.
- 11) 小野寺鶴将・田縁勝洋・鳥越昌隆 (2010) 北海道十勝地方のナガイモにおけるヤマノイモえそモザイクウイルスの感染時期およびこれに関与するアブラムシの寄生消長について. 北日本病虫研報61: 197~200.
- 12) 日本植物病理学会ホームページ病名目録 植物ウイルス分類委員会 (2014) 日本に発生する植物ウイルス・ウイロイド.
- 13) 吉秋 斎・村濱 稔・濱絵里子・小牧正子 (2008) RT-PCR法を用いたフリージアのウイルス診断. 園芸学研究7 (別) 2: 569.

(2018年11月9日受理)